

Midazolam und dessen Metabolit 1-OH-Midazolam verändern die kortikale Netzwerkaktivität bereits in niedrigen nanomolaren Konzentrationen

Berthold Drexler¹, Monika Balk¹, Uwe Rudolph², Harald Hentschke¹ und Bernd Antkowiak¹

¹Sektion Experimentelle Anaesthesiologie, Klinik für Anaesthesiologie und Intensivmedizin, Eberhard-Karls-Universität Tübingen

²Laboratory of Genetic Neuropharmacology, McLean Hospital, Department of Psychiatry, Harvard Medical School, Belmont MA 02478, USA

Fragestellung: Benzodiazepine induzieren in mikromolaren Konzentrationen Bewusstlosigkeit. Eine aktuelle, jedoch umstrittene, Hypothese besagt, dass bereits 100-1000fach niedrigere Konzentrationen die neuronale Aktivität im Kortex verändern. Dies wird mit negativen Langzeitfolgen wie z.B. dem postoperativen kognitiven Defizit in Verbindung gebracht. [1] Dem sollen Wirkungen an bestimmten GABA_A-Rezeptoren zugrunde liegen, welche sehr empfindlich für Benzodiazepine sind. Das primär über GABA_A-Rezeptoren wirkende Midazolam findet in Anästhesie und Intensivmedizin breite Verwendung. Für die zentralnervösen Wirkungen von Midazolam wird sowohl die Substanz selbst, als auch ihr Hauptmetabolit, 1-OH-Midazolam verantwortlich gemacht. [2]

Methodik: Zur Charakterisierung der Wirkung von Midazolam und 1-OH-Midazolam wurden organotypische Kulturen aus dem Kortex von C57/BL6 Wildtypmäusen und der GABA_A-R- α 1(H101R) Knock-In Mutante hergestellt und für 2 Wochen *ex vivo* kultiviert. In Kulturen der α 1(H101R) Mutante sind GABA_A-Rezeptoren mit α 1-Untereinheit, welche den am häufigsten vorkommenden Subtyp darstellen, für Benzodiazepine unempfindlich. [3] Die Organentnahme wurde dem zuständigen Regierungspräsidium angezeigt. Mittels extrazellulärer Elektroden wurde die Wirkung von Midazolam und 1-OH-Midazolam auf die elektrische Aktivität des neuronalen Netzwerkes registriert. Als statistisches Maß diente die Effektstärke (Hedges' d mit 95%-Konfidenzintervall).

Ergebnisse: Das spontane Feuermuster der Gewebekulturen war gekennzeichnet durch abwechselnde Phasen hoher Netzwerkaktivität, unterbrochen von neuronaler Ruhe. In einer Konzentration von 5nM führte Midazolam in Kulturen des Wildtyps zu einer homogenen Hemmung des kortikalen Netzwerkes. Ab 50nM zeigte Midazolam einen qualitativ unterschiedlichen Effekt, welcher durch eine betonte Inhibition unmittelbar in den ersten 50ms nach Beginn einer Aktivitätsphase gekennzeichnet war (Abb.1). Dieser typische Effekt war in Gewebekulturen der α 1(H101R) Mutante nicht nachweisbar. Der Midazolam-

Metabolit 1-OH-Midazolam hemmte ebenfalls ab Konzentrationen von 10nM die neuronale Aktivität. In Gegenwart des Benzodiazepin-Antagonisten Flumazenil waren die Effekte sowohl von Midazolam als auch von 1-OH-Midazolam nahezu aufgehoben.

Interpretation: Sowohl Midazolam als auch 1-OH-Midazolam verändern bereits in sehr niedrigen Konzentrationen die kortikale Netzwerkaktivität. Es erscheint plausibel, dass entsprechend niedrige Konzentrationen noch lange über den therapeutisch notwendigen Zeitraum hinaus zu Veränderungen der neuronalen Aktivität im zentralen Nervensystem führen. Diese Wirkung könnte somit an Langzeitfolgen nach Anästhesie bzw. intensivmedizinischer Therapie wie kognitivem Defizit oder Konzentrationsstörungen beteiligt sein. Die unterschiedlichen Wirkprofile von Midazolam in Kulturen des Wildtyps und der $\alpha 1(H101R)$ Mutante implizieren eine Beteiligung von GABA_A-Rezeptoren mit $\alpha 1$ -Untereinheit für Konzentrationen ab 50nM. In Konzentrationen darunter scheinen jedoch andere Rezeptorsysteme beteiligt zu sein. Unsere Befunde legen nahe, dass Substanzen, welche diese ($\alpha 1$ -GABA_A-Rezeptor-unabhängigen) Wirkungen in niedrigsten Konzentrationen nicht aufweisen, auch mit weniger unerwünschten Langzeitwirkungen behaftet wären als die gegenwärtig verfügbaren Benzodiazepine.

Literatur: 1. Saab BJ, Maclean AJ, Kanisek M, Zurek AA, Martin LJ, Roder JC, et al. Short-term memory impairment after isoflurane in mice is prevented by the $\alpha 5$ -GABA(A) receptor inverse agonist L-655,708. *Anesthesiology* 2010; 113:1061-1071.

2. Tuk B, van Oostenbruggen MF, Herben VM, Mandema JW, Danhof M. Characterization of the pharmacodynamic interaction between parent drug and active metabolite in vivo: midazolam and alpha-OH-midazolam. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 289:1067-1074.

3. Rudolph U, Crestani F, Benke D, Brünig I, Benson JA, Fritschy J-M, et al. Benzodiazepine actions mediated by specific GABA(A) receptor subtypes. *Nature* 1999; 401:796-800.

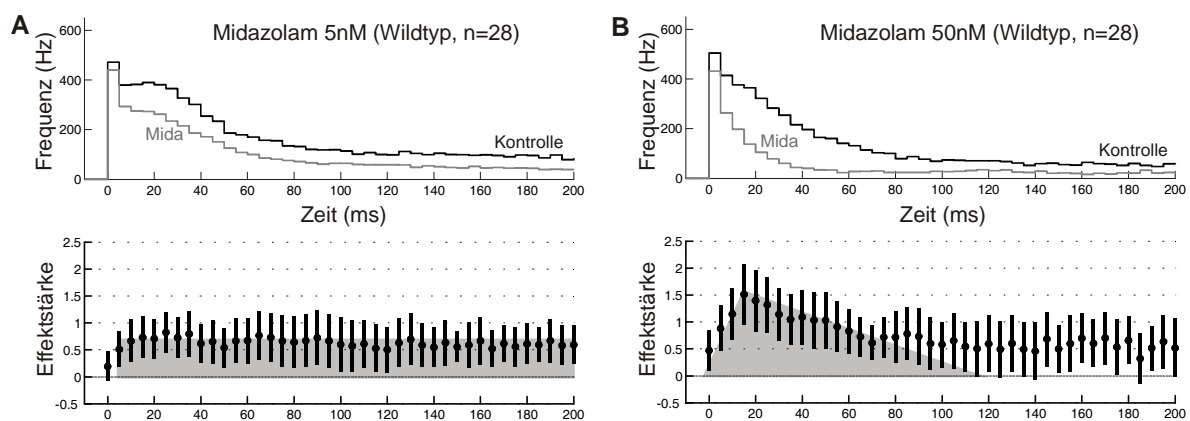


Abb. 1: Wirkung von Midazolam (A: 5nM; B: 50nM) auf die Aktivität kultivierter kortikaler Neurone. Im oberen Teil ist die Frequenz von Aktionspotenzialen in bins à 5ms während der ersten 200ms einer Aktivitätsphase (Kontrolle schwarz; Midazolam grau) dargestellt. Darunter die korrespondierende Effektstärke. Ein signifikanter Effekt liegt vor, wenn das 95%-Konfidenzintervall den Nullwert nicht mit einschließt. Grau unterlegt ist der Bereich der Hauptwirkung von Midazolam.